

Glykosyliertes Albumin und glykosyliertes Hämoglobin:

**Welcher Parameter eignet sich besser zur
Therapiekontrolle des juvenilen Diabetes mellitus?**

vorgelegt von
Cornelia Stern

aus

München

Jahr

~~1984~~

Duss München
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dr. Von Hauner'schen Kinderklinik

der Universität München

Direktor: Prof. Dr.med.K.Betke

Glykosyliertes Albumin und glykosyliertes Hämoglobin:

Welcher Parameter eignet sich

besser zur Therapiekontrolle

des juvenilen Diabetes mellitus?

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

Cornelia Stern

aus

München

Jahr

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz.Dr.med.W.Endres

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med.K.Betke

Dekan: Prof.Dr.med.W.Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 31.01.84

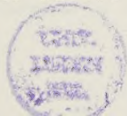
Inhaltsverzeichnis

A.) Einleitung	Seite
Entstehung und Bedeutung des HbA ₁ und glykosylierten Albumins	1
B.) Methodik	
Patientengut, Probensammlung	3
Material, Chemikalien	5
Meßmethoden	7
Statistische Auswertungsmethoden	15
C.) Ergebnisse	17
Tabellen	21
Abbildungen	27
D.) Diskussion der Ergebnisse	37
E.) Zusammenfassung	46
Literaturnachweis	49
Lebenslauf	54

A.) Einleitung

Entstehung und Bedeutung des HbA₁ und glykosylierten Albumins

Das Hämoglobin des Erythrozyten des Erwachsenen setzt sich aus ca. 90% HbA₁, 2.5% HbA₂ und kleinsten Mengen HbF (ca. 0.5%) zusammen (1), nebenbei aber noch aus weiteren Hämoglobinspezies, sogenannten "minor hemoglobins", die ungefähr 5-10% des Totalhämoglobins ausmachen. Sie werden wegen ihrer höheren anodischen Wanderungsgeschwindigkeit in der Elektrophorese auch "fast hemoglobins" genannt. Sie konnten von Schroeder et al. in weitere Untergruppen unterteilt werden, nämlich in HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}, HbA_{1d} und HbA_{1e}, wovon HbA_{1c} mit 4-6% den größten Anteil einnimmt (8,32). Die Strukturanalyse von HbA_{1c} ergab, daß es sich um eine N-glykosidisch gebundene Glucose an beiden N-terminalen Gruppen der β -Kette handelt (4,19). Diese Reaktion ist ein langsamer, nicht-enzymatischer und weitgehend irreversibler Prozeß, wobei eine sogenannte Amadori-Umlagerung stattfindet (40). Mit Hilfe eines Fe-59-Tracers konnte gezeigt werden, daß der HbA_{1c}-Spiegel während der Lebensdauer der Erythrozyten von 120 Tagen zunahm (6) und in den ältesten Erythrozyten am höchsten war (18). 1968 entdeckte Rahbar (28), daß Diabetiker erhöhte HbA₁-Werte hatten. Auch Trivelli et al. (35) maßen mit einer modifizierten chromatographischen Methode bei Diabetikern im Vergleich zu Gesunden nahezu doppelte HbA_{1c}-Werte. Wie mehrere Studien (11,13,19, 26,34,37,40) demonstrierten, war der Anteil an HbA₁ von der Höhe des Glucosespiegels und somit der intraerythrozytären Glucosekonzentration abhängig und konnte so einen Hinweis auf die Stoffwechsellage des Diabetikers während der letzten 3-4 Monate geben. Daher bietet sich die HbA₁-Bestimmung



bei Diabetikern als Verlaufskontrolle der Stoffwechsellage über einen längeren Zeitraum an. Da die Glykosylierungsreaktion ein nicht-enzymatischer Prozeß ist, kann sie im Prinzip mit jeder Aminogruppe auf jedem Protein stattfinden, so auch mit den Serumproteinen. Dolhofer und Wieland (15), wie auch Guthrow et al. (24) konnten bei Diabetikern ebenfalls erhöhte Werte von glykosylierten Proteinen, besonders von Albumin, feststellen. Im Vergleich zum glykosylierten Hämoglobin war sogar der Anteil des glykosylierten Albumins stärker erhöht. An mit alloxaninduziertem Diabetes mellitus (12) konnte gezeigt werden, daß bei Albumin die Glykosylierungsreaktion 10x schneller vor sich geht und schneller auf Glucosespiegeländerungen reagiert als Hb. Daraus schloß man, daß glykosyliertes Albumin als Indikator der Stoffwechsellage über die letzten 1-2 Wochen geeignet ist, entsprechend der rascheren Erneuerungsrate des Albumins. So stellte sich die Frage, inwieweit die Messung des glykosylierten Albumins als kurzfristiger Indikator und des glykosylierten Hämoglobins als längerfristiger Indikator eine Beurteilung der diabetischen Stoffwechsellage der vorausgehenden Wochen zuläßt und somit neben den bisherigen Parametern, den Blutglucosewerten und der 24-Stunden-Glucoseausscheidung im Urin, eine bessere Beurteilung und Überwachung des kindlichen Diabetes mellitus ermöglicht.

B.) Methodik

Patientengut

Es wurden 56 Patienten der Hauner'schen Kinderklinik München untersucht, die in unterschiedlichen Zeitabständen zur Überwachung und Neueinstellung ihres Diabetes mellitus in die Stoffwechselsprechstunde kamen. Die Kinder wurden nach bisher üblichen ärztlichen Beurteilungskriterien wie Blutglucosewerten, Uringlucoseausscheidung / 24 Std. und häuslicher Buchführung über die tägliche Glucoseausscheidung, in drei Gruppen eingeteilt, in gut eingestellte (G1), mittelmäßig eingestellte (G2) und schlecht eingestellte (G3) Diabetiker. Die Patienten bestanden aus 22 Knaben und 34 Mädchen, waren 5 bis 19 Jahre alt und hatten ein Durchschnittsalter von 13 7/12 Jahren. Die Kontrollgruppe der Gesunden bestand aus 6 männlichen und 9 weiblichen Personen, die 1 bis 40 Jahre alt waren und ein Durchschnittsalter von 22 7/12 Jahren hatten. Alle Diabetiker waren insulinpflichtig. Wie üblich brachten die Kinder ihre Urinportionen von 3x8 Stunden vom vorhergehenden Tag zur Uringlucosebestimmung mit. Außerdem wurde der postprandiale Blutglucosewert (ca. 14⁰⁰) bestimmt. Zusätzlich wurden 2ml venöses Blut zur Bestimmung des Anteils von HbA_{1c} und glykosyliertem Albumin abgenommen. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich über ein Jahr.

Probensammlung

Das heparinisierte Blut wurde innerhalb 10 min nach Venenpunktion bei 1500 x g 10 min lang zentrifugiert. Das Plasma wurde bis zur Analyse bei -15°C aufbewahrt. Die Erythrozyten wurden

3x mit 0.9%iger NaCl-Lösung gewaschen und bis zur Weiterverarbeitung bei -15°C eingefroren.

Material

Geräte: - Eppendorf-Photometer M1167671

- Eppendorf-Zentrifuge
- Heizblock 37°C , 95°C
- Autoklave MM München, 120°C , 1.2 atü
- Gefrierschrank Linde, Temp. -15°C
- Säulenständer von Bio-Rad Laboratories und Boehringer Mannheim
- Säulenständer nach eigener Anfertigung
- Eppendorffgefäße
- Pipetten
- Einmalküvetten, Einmalreagenzgläser
- Dialysierschlauch der Firma Kalle

Chemikalien:

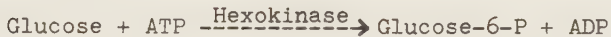
- "Affi Gel Blue", 50-100 mesh, Albuminbindungskapazität 9.5 mg/ml, Bio-Rad Laboratories, München
- 5-Hydroxymethylfurfural crystalline, Sigma Chemical Company, München
- Oxalsäure $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, Firma Merck, Darmstadt
- Trichloressigsäure CCl_3COOH , Firma Merck, Darmstadt
- 2-Thiobarbitursäure $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, Firma Merck, Darmstadt
- Harnstoff H_2NCONH_2 , Firma Merck, Darmstadt
- Perchloressigsäure, Firma Merck, Darmstadt
- D-Glucose, Firma Merck, Darmstadt
- Transformationslösung zur Hb-Bestimmung, Firma Merck, Darmstadt

- Glucose-Hexokinase-Methode, UV-Test, Boehringer Mannheim
- Test-Kombination Hämoglobin A₁ (HbA₁), chromatographischer Test, Boehringer Mannheim
- Hämoglobin A₁ (HbA₁) Säulentest, Bio-Rad Laboratories, München

Meßmethoden

(1) Blutglucose- und Uringlucosebestimmung nach der Hexokinase- methode (Test-Kombination Boehringer Mannheim)

Testprinzip:



benötigte Reagenzien:

Lösung 1: Triäthanolaminpuffer 0.3 mol/l, pH 7.4

MgSO_4 4 mmol/l

Lösung 2: NADP 12 mmol/l

Lösung 3: ATP 15 mmol/l

Lösung 4: 125 U/ml Hk/G-6-P-DH

Perchlorsäure 0.33 N

Durchführung: 0,01 ml der Proben werden mit 0.1 ml Perchlorsäure enteiweißt, nach dem Zentrifugieren werden 0.04 ml Überstand mit 0,25 ml Lösung 1, 0.01 ml Lösung 2 und 0.01 ml Lösung 3 vermischt. Danach werden 0.002 ml Lösung 4 zugegeben und 10-15 min später bei 334 nm die Extinktion gegen Luft gemessen. Als Standard dienen Wasser und eine 10%ige Glucoselösung.

(2) Hämoglobinbestimmung nach der Hämoglobincyanidmethode

Reagenzien: Transformationslösung Kal. cyanat. 0.05

Kal. ferricyan. 0.2

Natriumbicarbonat 1.0

Aqua dest. ad 1000 ml

Durchführung: 0.02 ml der Proben werden mit 2.5 ml Transformationslösung versetzt, nach 15 min wird die Extinktion bei 546 nm gegen die Transformationslösung gemessen.

Der Hb-Wert in mg/ml ergibt sich aus der Formel:

$$E_{546 \text{ nm}} \times 18.4 = \text{mg Hb/ml}$$

(3) Säulenchromatographische und colorimetrische HbA₁-Bestimmung

(a) Säulenchromatographische Methode der Firma Bio-Rad

Benötigte Testkomponenten:

als Hämolyse-reagenz Polyäthylenäther Lösung (0.33% V/V)

Elutions-/Entwicklungsreagenz: Phosphatpuffer pH 6.7

0.01 M KCN mit Konservierungsmittel

Kationenaustauscher-Säulen (Bio-Rex 70, 0.6 x 4 cm) als Einwegware

Durchführung: 0.1 ml gewaschene Erythrozyten werden mit 0.5 ml Hämolyse-reagenz gut vermischt. Nach 15 min werden da-

von 0.1 ml auf die Harzsäule pipettiert. Mit 10 ml Elutions-/Entwicklungsreagenz wird die schnellwandernde $\text{HbA}_{1a,1b,1c}$ -Fraktion ausgewaschen und als Lösung A aufgefangen. Für die Gesamthämoglobinbestimmung werden 10 ml Elutions-/Entwicklungsreagenz mit 0.02 ml Hämolysat vermischt (Lösung B). Die Extinktion von Lösung A und B werden bei einer Wellenlänge von 405 nm gegen das Elutions- Entwicklungsreagenz photometerisch bestimmt.

Die Berechnung des prozentualen HbA_1 -Anteils ergibt sich aus folgender Formel:

$$\frac{E_{405 \text{ nm A}}}{E_{405 \text{ nm B}}} \cdot \frac{1}{5} = \% \text{ HbA}_1$$

(b) Säulenchromatographische Methode der Firma Boehringer Mannheim, modifiziert nach Schnek und Schroeder (32)

Benötigte Reagenzien:

Lösung 1: 0.1% Detergenz als Hämolysereagenz ^(R) (Bestellnummer 556742)

Lösung 2: Phosphatpuffer 40 mmol/l als Elutionslösung für HbA_1

Lösung 3: Natriumchlorid 400 mmol/l als Elutionslösung für andere Hämoglobine

Säulen: Kationenaustauscherharz ca. 1 g/ Säule (0.6 x 6 cm Säulen)

Durchführung: 0.2 ml Lösung 1 werden mit 0.05 ml gewaschenen Erythrozyten gemischt, 1 min stehen gelassen, nochmals gemischt und anschließend 0.05 ml Hämolytat auf die Säule pipettiert. 0.2 ml Lösung 2 werden vorsichtig an die Säulenwand pipettiert und das Eluat verworfen. Dann werden die Säulen mit 4 ml Lösung 2 ausgewaschen, das Eluat gesammelt und die Extinktion E_1 bei 405 nm gegen Wasser gemessen. Zur Bestimmung der anderen Hämoglobine wird dieselbe Säule mit 4 ml Lösung 3 gespült, das Eluat mit 15 ml dest. H_2O verdünnt und E_2 bei 405 nm photometrisch bestimmt.

Der Anteil des HbA_1 ergibt sich aus:

$$\frac{E_1}{E_1 + 4.75 \times E_2} \times 100 = \% HbA_1$$

Wurden die HbA_1 -Werte nach der säulenchromatographischen Methode der Firma Bio-Rad gemessen und mit den Ergebnissen der Meßmethode der Firma Boehringer Mannheim verglichen, so lagen bei gleichen Versuchsbedingungen die mit dem Bio-Rad Säulentest ermittelten HbA_1 -Werte um den Faktor 1.13 höher als die mit der Meßmethode von Boehringer Mannheim erfaßten HbA_1 -Werte.

Da aus finanziellen Gründen nicht alle HbA_1 -Werte mit dem Bio-Rad Säulentest bestimmt werden konnten, wurden die nach der säulenchromatographischen Methode der Firma Boehringer Mannheim ermittelten HbA_1 -Werte mit dem Faktor 1.13 multipliziert.

(c) Colorimetrische Bestimmung von HbA₁ (HMF-Test)

nach Parker et al (27)

Testprinzip:

Das glykosylierte Hb wird durch Oxalsäure zu 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) umgewandelt und nach einer Farbreaktion mit Thiobarbitursäure photometrisch bestimmt. Die Ergebnisse werden in nmol HMF/mg Hb angegeben.

Benötigte Reagenzien:

0.6 M Oxalsäure

0.05 N Thiobarbitursäure (TBA) pH 6

75% Trichloressigsäure (TCA)

40µM und 80µM Hydroxymethylfurfural (HMF)

Durchführung: Gewaschene Erythrozyten werden 1:21 mit dest. H₂O verdünnt. Davon werden 0.1 ml mit 0.1 ml Oxalsäure vermischt und 1 Std. bei 120°C mit 1.2 atü autoklaviert. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mit 0.1 ml TCA versetzt, gemischt und zentrifugiert. 0.2 ml des Überstandes werden nach Zugabe von 0.05 ml TBA 30 min lang bei 37°C inkubiert. Die Extinktion wird bei 436 nm am Photometer ermittelt. Die Standardlösungen für die Eichkurve sowie der Leerwert mit Wasser werden wie die Proben behandelt.

(4) Bestimmung des glykosylierten Albumins

(a) Affinitätschromatographische Trennung des Albumins
von den Serumproteinen mit "Affi Gel Blue"

Dazu werden benötigt:

"Affi Gel Blue" 50-100 mesh von Bio-Rad (Bindungskapazität für Albumin 9.5 mg/ml),

leere Säulen des HbA₁-Säulentests von Bio-Rad Laboratories,

0.02 M Natriumphosphatpuffer pH 7.1 = Puffer A,

1.4 M NaCl in Puffer A,

8 M Harnstoff in Puffer A,

Dialysierschlauch der Firma Kalle.

Testansatz:

Die Säulen werden mit 0.7 ml "Affi Gel Blue" gepackt und mit 1.5 ml Puffer A äquilibriert. Danach werden 0.2 ml aufgetautes Serum mitten auf die Säule pipettiert und die Säule mit 1.0 ml Puffer A und anschließend 0.2 ml 1.4 M NaCl in Puffer A gespült. Dann werden 1.5 ml 1.4 M NaCl in Puffer A auf die Säule gegeben und das Eluat gesammelt. Zur Regeneration des "Affi Gel Blue" werden die Säulen mit 2 ml 8 M Harnstoff in Puffer A gewaschen und anschließend mit Puffer A gespült. Die gesammelten Proben werden über Nacht in destilliertem Wasser dialysiert.

(b) Bestimmung des glykosylierten Albumins mit Thiobarbitursäure, modifiziert nach Winterhalter und Flückner (19)

Das Prinzip ist das gleiche wie bei der colorimetrischen HbA₁-Bestimmung. Die nicht-enzymatisch gebundene Glucose wird durch Oxalsäure zu HMF umgewandelt und nach Bildung eines Farbkomplexes mit Thiobarbitursäure photometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm erfaßt. Die Werte werden in nmol HMF/mg Protein angegeben.

Folgende Lösungen werden verwendet:

0.05 N Thiobarbitursäure (TBA),

0.6 N Oxalsäure,

75% Trichloressigsäure (TCA),

1 mM 5-Hydroxymethylfurfural-Eichlösung, die für den Standard auf 5 µM und 10 µM verdünnt wird.

Testansatz:

0.7 ml Probe werden mit 0.5 ml Oxalsäure gemischt und 1 Std. bei 95°C in einem Heizblock hydrolysiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Ausfällen des Albumins mit 0.2 ml TCA wird die Lösung zentrifugiert, vom Überstand werden 0.2 ml abpipettiert und mit 0.2 ml TBA gut gemischt und 30 min lang bei 37°C inkubiert. Die Extinktion wird bei 405 nm am Photometer gemessen. Standard und Leerwert mit Wasser werden bis auf das Heizen bei 95°C gleich behandelt.

(5) Proteinbestimmung nach Lowry, modifiziert als Mikromethode

Folgende Reagenzien werden verwendet:

Lösung A = 2% Na_2CO_3 (wasserfrei) in 0,1 N NaOH

Lösung B_a = 5.5% CuSO_4

Lösung B_b = 1.35% Seignettesalz in Na-K-Tartrat

Lösung C = Folin Ciocalteus Phenolreagenz : Lösung A im Verhältnis 1:1

Mischung I und II werden immer frisch angesetzt:

I: 0.2 ml B_b + 0.02 ml B_a → 0.22 ml B

II: 5 ml A + 0.1 ml B → 5.1 ml D

Standards: 5 mg/ml Rinderserumalbumin werden auf 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 und 1.0 mg/ml verdünnt.

Als Leerwert wird Wasser verwendet.

Arbeitsgang: Zu 0.02 ml Probe werden 0.25 ml frisches Kupferreagenz D gegeben und 10 min stehen gelassen. Nach Zugabe von 0.02 ml Folin Ciocalteus Reagenz wird die Probe gut gemischt, 30 min in Dunkelheit stehen gelassen und anschließend bei 772 nm am Photometer in Mikroküvetten die Extinktion gegen Wasser abgelesen.

(6) Statistische Auswertungsmethoden

Die Auswertung der Meßergebnisse fand nach dem t-Test mit einseitiger Fragestellung für unabhängige Stichproben statt, und zwar nach folgender Formel:

$$f = n_1 + n_2 - 2$$

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - 0}{sp \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$sp = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 1) s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Nach dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (30), dem Vergleich zweier unabhängiger Stichproben, wurde zusätzlich noch überprüft, ob sich die Gruppen der Gesunden und der gut eingestellten Diabetiker (G1) in den colorimetrisch erfaßten Werten des HbA₁ und des glykosylierten Albumins signifikant unterscheiden, und ob auch die Gruppen G2 und G3 in den säulenchromatographisch gemessenen HbA₁-Werten einen signifikanten Unterschied zeigten.

Dazu wurden folgende Formeln verwendet:

$$U_1 = mn + \frac{m(m+1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = mn \frac{n(n+1)}{2} - R_2$$

wobei gilt: $U_1 + U_2 = mn$

$$\hat{z} = \frac{\left| U - \frac{mn}{2} \right|}{\sqrt{\left[\frac{mn}{s(s-1)} \right] \left[\frac{s^3-s}{12} \right] - \sum \frac{t_r^3 - t_r}{12}}}$$

wobei gilt: $s = m + n$

Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn $U_1 < U(m, n; \alpha)$ war, oder wenn $\hat{z} > z$, eins. Test war.

C.) Ergebnisse

Die Patienten wurden nach den postprandialen Blutglucosewerten und der Uringlucoseausscheidung in 24 Stunden in gut (G1) - mittelmäßig (G2) - schlecht (G3) eingestellte Gruppen aufgeteilt. Als gut eingestellt galten Diabetiker, die zwischen 0 und 5% der zugeführten Glucosemenge ausschieden und deren Blutglucosewerte nicht über 180 mg/dl lagen. Mittelmäßig eingestellte Patienten schieden zwischen 5 und 10% Glucose im Urin aus und hatten Blutglucosewerte zwischen 180-250 mg/dl. Schlecht eingestellte Diabetiker hatten Uringlucoseausscheidungen über 10% und Blutglucosewerte über 250 mg/dl.

Wie Abb.1A zeigt, bestand zwischen den Urin- und Blutglucosewerten keine signifikante Korrelation ($r = 0,21$).

Nach Tabelle 1 und 3 unterscheiden sich die Normalpersonen deutlich von allen Diabetikern zusammen durch ihren Blutglucosewert. Jedoch hob sich die Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant von den gut eingestellten Diabetikern (G1) ab.

Dasgleiche gilt für den Vergleich gut (G1) - mittelmäßig (G2) eingestellte Gruppe und mittelmäßig (G2) - schlecht (G3) eingestellte Gruppe. Nur G1 war statistisch signifikant von G3 anhand der Blutglucosewerte zu unterscheiden.

Bei den gesunden Kontrollpersonen wurde der Urin nicht untersucht, sondern angenommen, daß keine Glucoseausscheidung bestand.

Hinsichtlich der renalen Glucoseausscheidung fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen G1 und G2, jedoch zwischen G1 und G3 sowie G2 und G3.

Tabelle 2a und 3 zeigen, wie sich die Werte für HbA_1 (säulenchromatographische Methode) bei den einzelnen Gruppen verhielten. Die Kontrollgruppe unterschied sich statistisch signifikant von der Gesamtgruppe der Diabetiker ($P < 0.001$), ebenso von G1 ($P < 0.001$). Weiterhin fanden sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen G1 und G2 ($P < 0.05$) sowie G1 und G3 ($P < 0.01$). Jedoch für die Gruppe der mittelmäßig (G2) und schlecht (G3) eingestellten Diabetiker bestand kein signifikanter Unterschied in den HbA_1 -Werten.

Die gleichen Ergebnisse fanden sich bei Verwendung der colorimetrisch ermittelten HbA_1 -Werte (Tabelle 2b und 3).

Dasselbe gilt auch für die Werte des glykosylierten Albumins (Tabelle 2c und 3).

Aus den Abb. 1A-1D und Tabelle 4 sind die Korrelationen der postprandialen Blutglucosewerte mit verschiedenen anderen Parametern ersichtlich. Die Abb. 1B zeigt, daß mit $r = 0.72$ ein linearer Zusammenhang zwischen den Blutglucosewerten und den säulenchromatographisch bestimmten HbA_1 -Werten besteht. Ebenso korrelieren die colorimetrisch erfaßten HbA_1 -Werte mit den Blutglucosewerten (Abb. 1C), wobei $r = 0.85$. Wie aus Abb. 3A zu ersehen ist, besteht eine sehr enge Korrelation zwischen den Ergebnissen der colorimetrischen und der säulenchromatographischen Meßmethode für HbA_1 .

Auch das glykosylierte Albumin korrelierte mit $r = 0.66$ gut mit den gemessenen Blutglucosewerten (Abb. 1D). Der proportionale Anstieg des glykosylierten Albumins war größer als die prozentuale Zunahme der Blutglucose (Abb. 1D). So stieg die

Blutglucose um 40%, während der Wert des glykosylierten Albumins um 100% zunahm.

Verglich man die colorimetrisch ermittelten Werte des HbA_1 mit den entsprechenden Ergebnissen des glykosylierten Albumins, so konnte auch hier ein Zusammenhang (Abb. 3C) mit $r = 0.78$ festgestellt werden.

Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch beim Vergleich HbA_1 (säulenchromatographische Methode) - glykosyliertes Albumin (Abb. 3B), wobei $r = 0.84$. Der absolut betrachtete Anstieg des glykosylierten Albumins war verglichen mit dem des HbA_1 größer. So erhöhte sich der HbA_1 -Wert um 57%, während das glykosylierte Albumin von 2 auf 4 Einheiten anstieg (Abb. 3B).

Ging man nun von den Uringlucosewerten aus, so ergab sich folgendes: zwischen den Uringlucosewerten und den säulenchromatographisch gemessenen HbA_1 -Werten war mit $r = -0.015$ keine Korrelation vorhanden. Bei den colorimetrisch ermittelten HbA_1 -Werten war das Ergebnis mit $r = -0.059$ ähnlich. Auch der Vergleich Uringlucose - glykosyliertes Albumin zeigte mit $r = 0.29$ keine statistisch signifikante Korrelation, ähnlich wie der Vergleich Uringlucose und Blutglucose mit $r = 0.21$ (Abb. 2a-2c).

Die nicht signifikante Korrelation zwischen der Uringlucoseausscheidung/24h und verschiedenen anderen Parametern ergab sich aus folgendem Sachverhalt: Von 10 Kindern, die eine Uringlucoseausscheidung zwischen 5-10% hatten, also nach den bisherigen Kriterien gut bis mittelmäßig eingestellt waren, zeigten 2 Kinder HbA_1 -Werte über 18%. Eines dieser 2 Kinder hatte dabei neben einem niedrigen Blutglucosewert (51 mg/dl) auch

einen nur mäßig erhöhten Wert des glykosylierten Albumins (2.2 nmol HMF/mg Protein). Das andere Kind hatte dagegen mit 3.6 nmol HMF/mg Protein einen deutlich erhöhten Wert des glykosylierten Albumins und eine erhöhte Blutglucosekonzentration (220 mg/dl). Unter den 30 schlecht eingestellten Kindern mit einer Glucoseausscheidung über 10% der zugeführten Kohlenhydratmenge hatten 4 Kinder HbA₁-Werte von 11.7 - 13.9% und wiederum 3 dieser 4 Kinder erhöhte Konzentrationen des glykosylierten Albumins von 4 nmol HMF/mg Protein.

Tabelle 4 zeigt nochmals eine Übersicht der verschiedenen Korrelationskoeffizienten beim Vergleich zweier Parameter.

Tabelle 1

Glucosekonzentrationen in Blut und Urin

Gruppe	Alter (Jahre)	N	postprandiale Blutglucose (mg/dl)	Uringlucose (g / 24h)
Gesunde	1-40	15	114.8 $\pm$ 9.6 ^a (96 - 122) ^c 112 ^d	n.b. ^b
Diabetiker				
G1	5-17	16	135.3 $\pm$ 48.0 (85 - 266) 120	11.7 $\pm$ 8.8 (0 - 27.1) 12.1
G2	7-19	11	212.2 $\pm$ 45.9 (128 - 263) 220	16.9 $\pm$ 8.9 (6.5 - 35) 17.4
G3	9-19	29	259.3 $\pm$ 79.4 (127 - 464) 274	70.7 $\pm$ 33.6 (12.9 - 128) 62.9
Alle Dia- betiker zu- sammen	5-19	56	215 $\pm$ 85.2 (85 - 464) 219	46.5 $\pm$ 39.5 (0 - 128.1) 29.9

^a $\bar{x} \pm SD$

^b n.b.: nicht bestimmt

^c Bereich

^d Median

Tabelle 2a

Säulenchromatographisch gemessene Werte für glykosyliertes Hämoglobin (HbA₁) bei Gesunden und Diabetikern

Gruppe	N	HbA ₁ (%)			
		$\bar{x}$	SD	Bereich	Median
Gesunde	15	6.81	0.66	5.85-7.90	6.80
Diabetiker					
G1	14	13.9	3.13	9.6-18.4	14.6
G2	7	16.1	2.13	12.5-19.2	16.7
G3	28	16.2	2.60	11.7-21.6	16.6
Alle Diabetiker zusammen	49	15.5	2.90	9.6-21.6	15.8

Tabelle 2b

Colorimetrisch bestimmte Werte für glykosyliertes Hämoglobin (HbA₁) bei Gesunden und Diabetikern

Gruppe	N	HbA ₁ (nmol HMF / mg Hb)			
		$\bar{x}$	SD	Bereich	Median
Gesunde	15	2.89	0.28	2.00 - 3.30	2.94
Diabetiker					
G1	7	4.77	0.97	3.31 - 5.70	5.45
G2	7	6.13	1.06	5.20 - 7.70	5.30
G3	10	6.25	0.89	5.10 - 8.30	6.10
Alle Dia- betiker zu- sammen	24	5.90	1.16	3.31 - 8.30	5.70

Tabelle 2c

Glykosyliertes Albumin bei Gesunden und Diabetikern

Gruppe	N	glykosyliertes Albumin (nmol HMF/mg Protein)			
		$\bar{x}$	SD	Bereich	Median
Gesunde	15	0.85	0.30	0.28 - 1.35	1.00
Diabetiker					
G1	14	1.98	0.85	0.80 - 4.50	2.00
G2	8	2.66	0.87	1.50 - 4.00	2.60
G3	21	2.97	1.21	1.23 - 6.80	2.80
Alle Diabetiker zusammen	43	2.59	1.13	0.80 - 6.80	2.20

Tabelle 3

Statistischer Vergleich (Student-Test) verschiedener Parameter in verschiedenen Gruppen

Gruppe	Glucose		HbA ₁		glykosylier- tes Albumin
	Blut	Urin	säulenchrom. Methode	colorim. Methode	
Gesunde vs. alle Diab.	P<0.025	-	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Gesunde vs. G1	n.s. ^a	-	P<0.001	P<0.001	P<0.001
G1 vs. G2	n.s.	n.s.	P<0.05	P<0.01	P<0.05
G1 vs. G3	P<0.001	P<0.001	P<0.01	P<0.01	P<0.001
G2 vs. G3	n.s.	P<0.005	n.s.	n.s.	n.s.

^a n.s.: nicht signifikant

Tabelle 4

Übersicht der Korrelationen verschiedener Parameter bei Gesunden und Diabetikern

Parameter 1	Parameter 2	Korrelations- koeffizient r	P
postprandiale Blutglucose(mg/dl)	Uringlucose(g/24h)	r = 0.21	n.s.
postprandiale Blutglucose(mg/dl)	HbA ₁ (%)	r = 0.72	P<0.001
postprandiale Blutglucose(mg/dl)	HbA ₁ (nmol HMF/ mg Hb)	r = 0.85	P<0.001
postprandiale Blutglucose(mg/dl)	glykosyliertes Albu- min(nmolHMF/mgProtein)	r = 0.66	P<0.001
Uringlucose(g/24h)	HbA ₁ (%)	r = -0.015	n.s.
Uringlucose(g/24h)	HbA ₁ (nmol HMF/ mg Hb)	r = -0.059	n.s.
Uringlucose(g/24h)	glykosyliertes Al- bumin(nmol HMF/ mg Protein)	r = 0.29	n.s.
glykosyliertes Al- bumin(nmol HMF/ mg Protein)	HbA ₁ (%)	r = 0.84	P<0.001
glykosyliertes Al- bumin(nmol HMF/ mg Protein)	HbA ₁ (nmol HMF/ mg Hb)	r = 0.78	P<0.001
HbA ₁ (%)	HbA ₁ (nmol HMF/ mg Hb)	r = 0.95	P<0.001

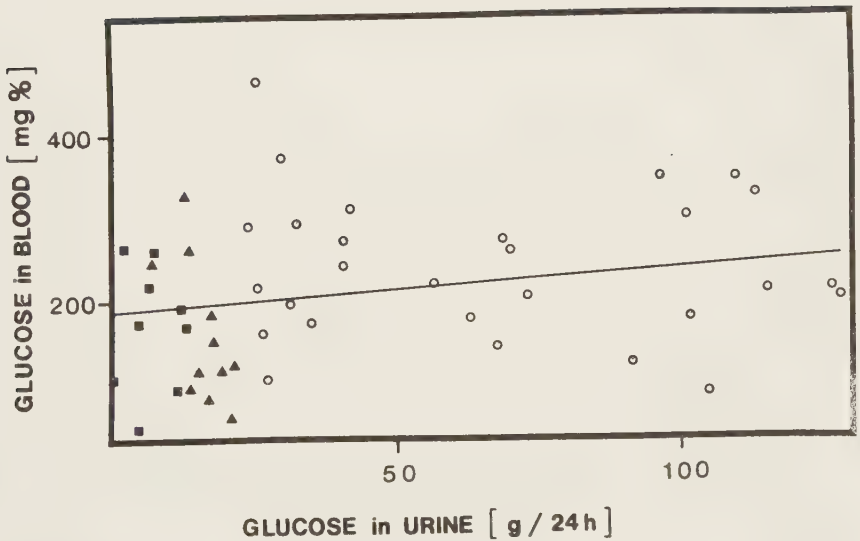


Abb.1A

Korrelation der postprandialen Blutglucosekonzentration
mit der Uringlucoseausscheidung / 24 Stunden,

$$y = 190.63 + 0.49 x, \quad r = 0.21.$$

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ◊ G3.

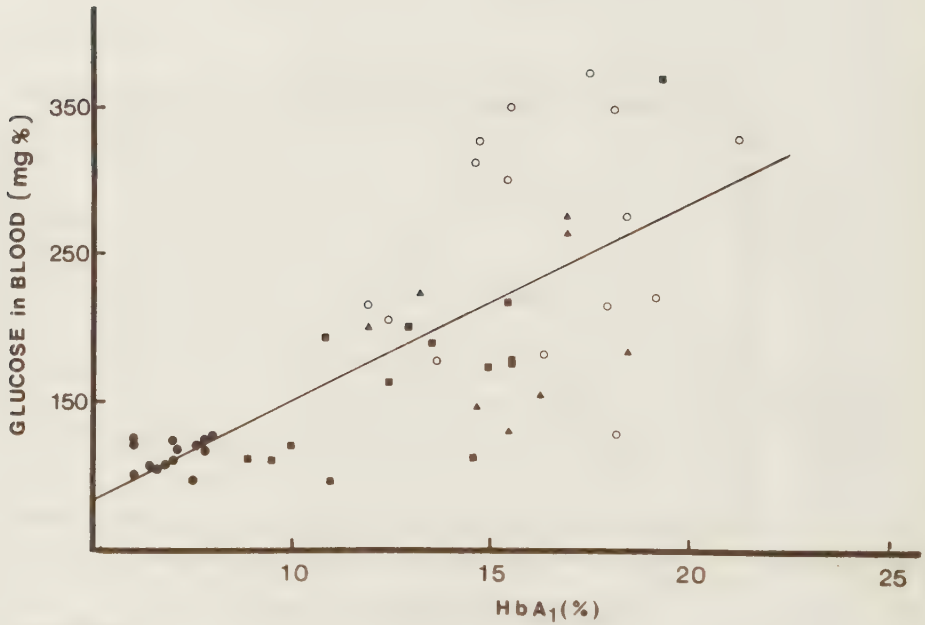


Abb.1B

Korrelation der postprandialen Blutglucosekonzentration
mit dem HbA_{1c}, säulenchromatographisch gemessen,

$$y = 17.5 + 15.2 x, r = 0.72.$$

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

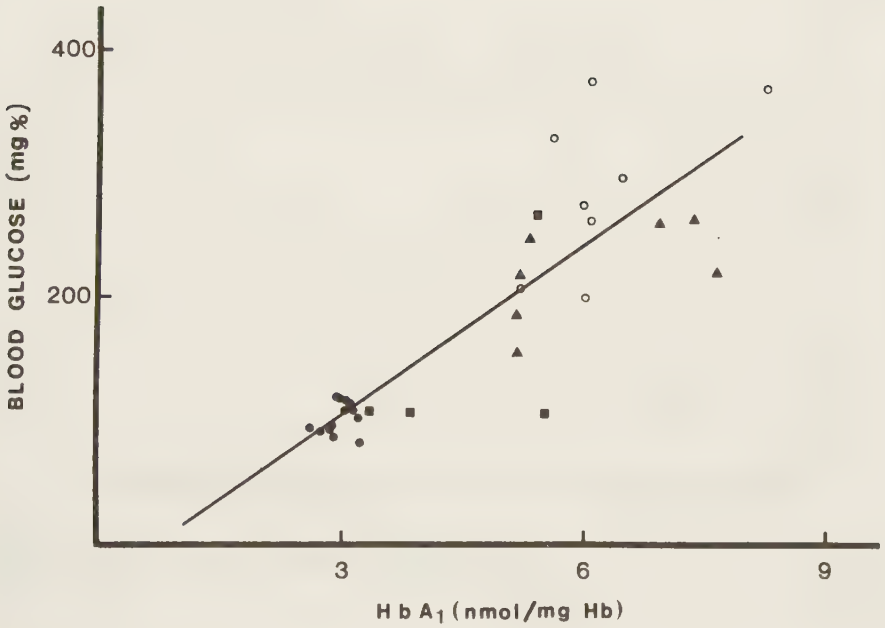


Abb.1C

Korrelation der postprandialen Blutglucosekonzentration
mit dem HbA₁, colorimetrisch bestimmt,

$$y = 44.41 x - 25.95, r = 0.85.$$

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

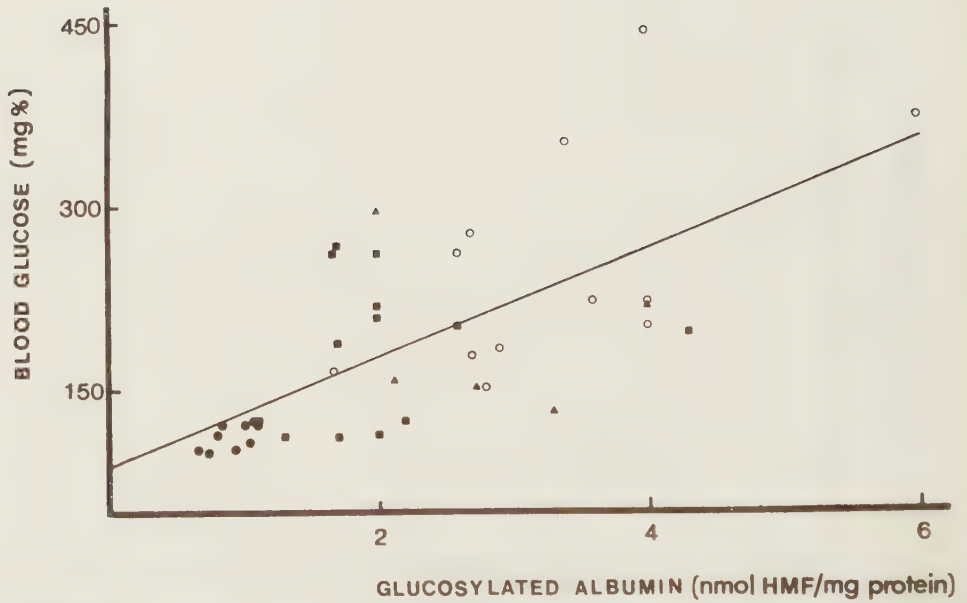


Abb.1D

Korrelation der postprandialen Blutglucosekonzentration
mit dem glykosylierten Albumin,

$$y = 86.6 + 44.1 x, r = 0.66.$$

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

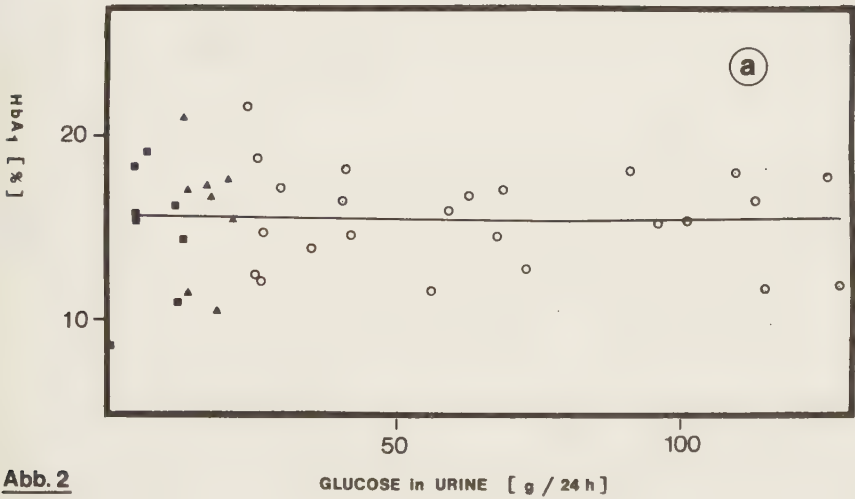
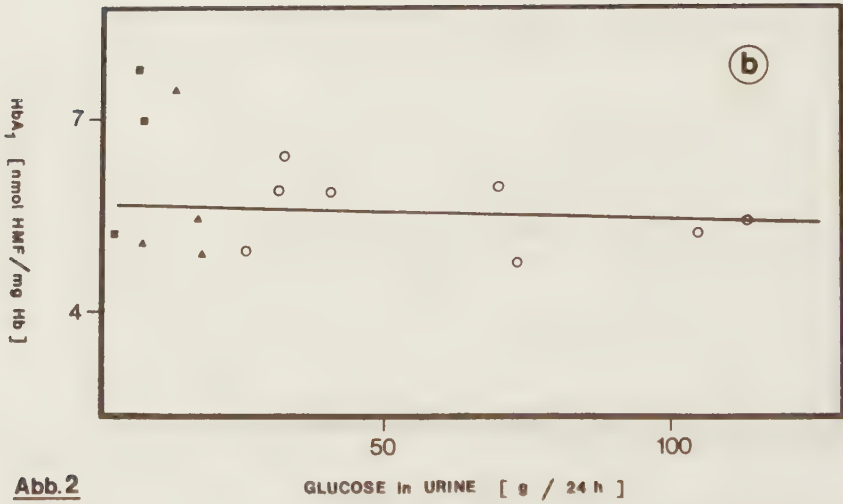


Abb. 2

Korrelation zwischen der Uringlucoseausscheidung / 24 h und den säulenchromatographisch gemessenen HbA₁-Werten, $y = 15.63 - 0.001 x$, $r = -0.015$.

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.



Korrelation zwischen der Uringlucoseausscheidung / 24 h
und den colorimetrisch bestimmten HbA_{1c}-Werten,
 $y = 5.84 + 0.002 x$, $r = -0.059$.

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

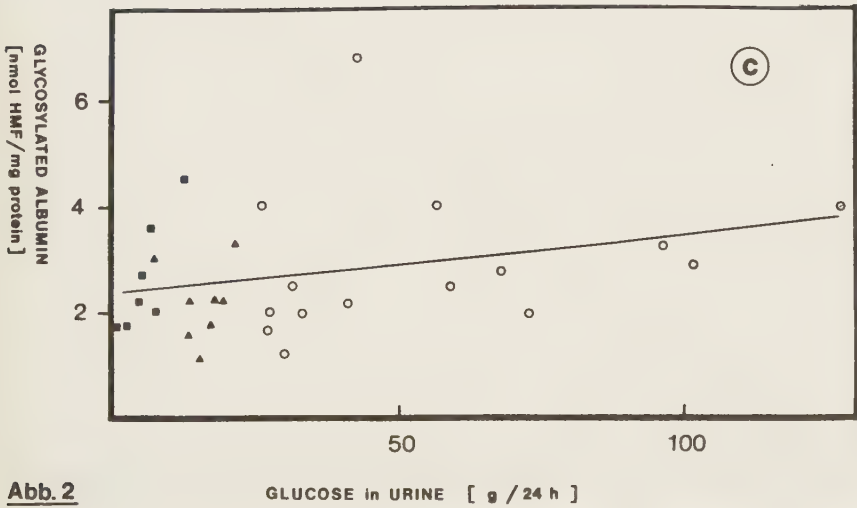
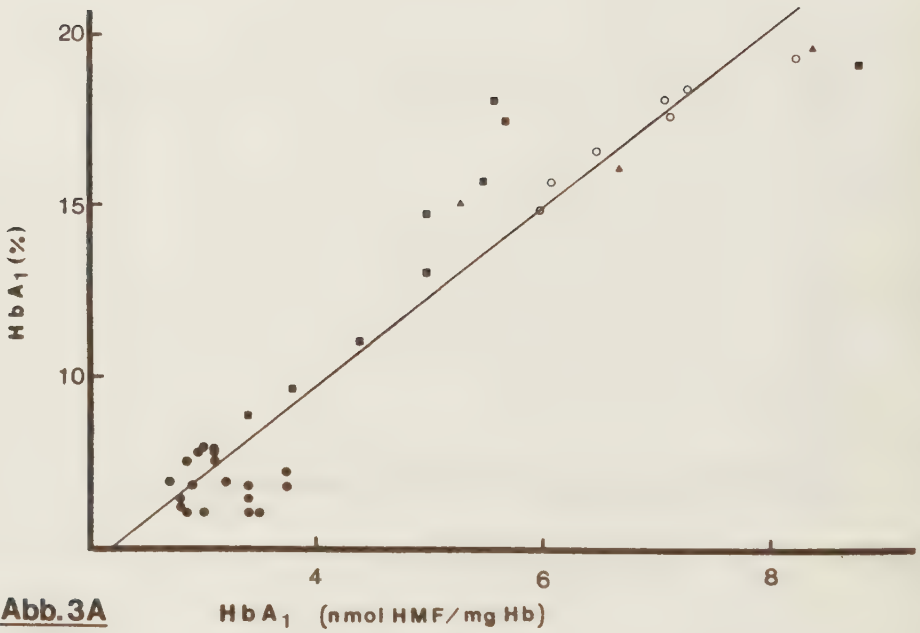


Abb. 2

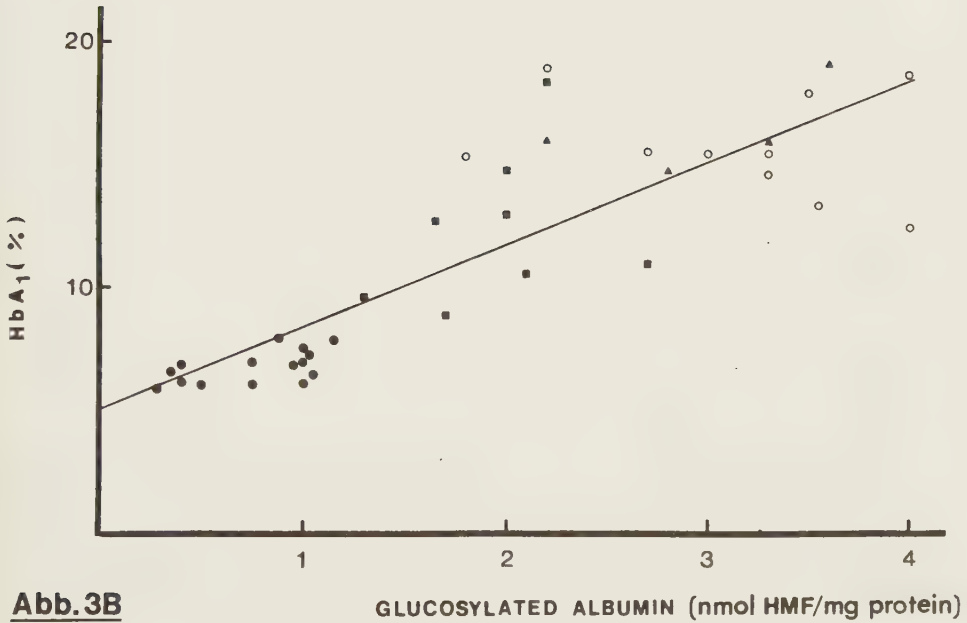
Korrelation zwischen der Uringlucoseausscheidung / 24 h
und der Konzentrationen des glykosylierten Albumins,
 $y = 2.32 + 0.011 x$, $r = 0.298$.

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.



Korrelation zwischen den säulenchromatographisch gemessenen HbA₁-Werten und den colorimetrisch bestimmten HbA₁-Werten, $y = -0.58 + 2.57 x$, $r = 0.95$.

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.



Korrelation zwischen den säulenchromatographisch gemessenen HbA₁-Werten und den Konzentrationen des glykosylierten Albumins,

$$y = 5.03 + 3.38 x, r = 0.84.$$

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

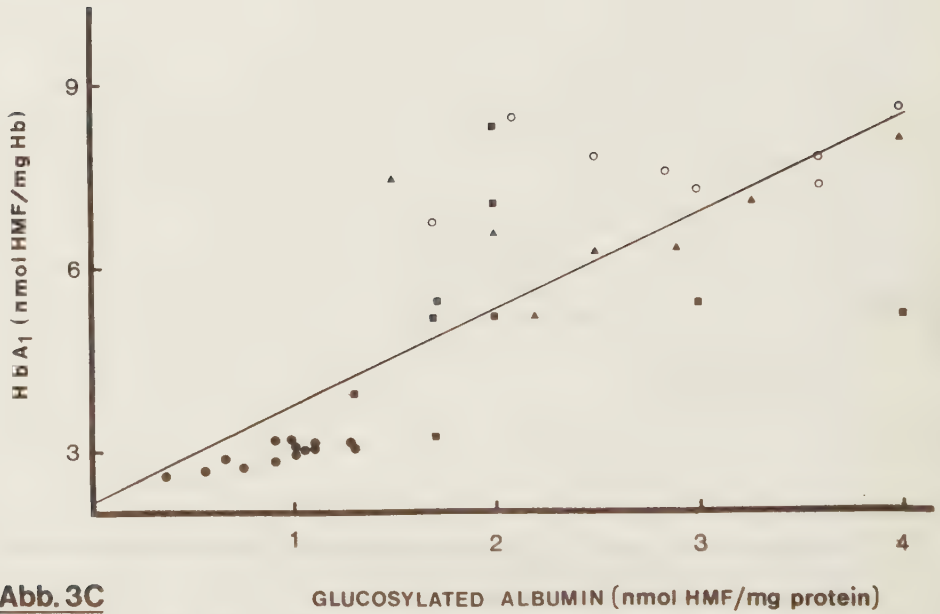


Abb. 3C

Korrelation zwischen den colorimetrisch bestimmten HbA₁-
Werten und den Konzentrationen des glykosylierten Albumins,
 $y = 2.17 + 1.55 x$, $r = 0.78$.

● Gesunde; ■ G1; ▲ G2; ○ G3.

D.) Diskussion der Ergebnisse

Der Vergleich der postprandialen Blutglucosewerte mit den säulenchromatographisch gemessenen HbA_1 -Werten (Abb.1B) zeigt eine lineare Abhängigkeit ($r = 0.72$). Gonen et al.(22) kamen zu ähnlichen Ergebnissen, nämlich für die Beziehung zwischen Plasmaglukose und den HbA_1 -Werten zu $r = 0.74$ und für diejenigen zwischen den Glucosehöchstwerten im Blut und den HbA_1 -Werten zu $r = 0.72$. Die beste Korrelation war zwischen mehreren Glucosedurchschnittswerten und den HbA_1 -Werten ($r = 0.84$) gegeben. Aus der Abhängigkeit des HbA_1 von den Blutglucosespiegeln läßt sich also schließen, daß HbA_1 ein guter Parameter für die diabetische Stoffwechsellage ist.

Der Vergleich der postprandialen Blutglucosewerte mit den colorimetrisch erfaßten HbA_1 -Werte (Abb.1C) weist mit $r = 0.85$ auch eine sehr gute Korrelation auf. Da bei der colorimetrischen HbA_1 -Bestimmung nur die stabile Ketoform des HbA_1 , also nur der irreversibel gebundene Glucoseanteil am Hämoglobin, erfaßt wird (27), scheint diese Messung ein wesentlich besserer Indikator für die Langzeitkontrolle der Stoffwechselsituation zu sein. Inada et al.(25) stellten fest, daß HbA_{1a+1b} und HbA_{1c} am besten mit den Blutglucosewerten vor 3 Monaten korrelierten.

Vergleicht man die säulenchromatographisch bestimmten HbA_1 -Werte mit den colorimetrisch bestimmten HbA_1 -Werten (Abb.3A), so findet sich mit $r = 0.95$ eine lineare Abhängigkeit. Auch Parker und Mitarbeiter (27) fanden bei einem solchen Vergleich einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0.98$. Das heißt also,

daß beim HbA_1 die stabile Fraktion in sehr engem Zusammenhang mit der Gesamtfraktion (stabile + labile Fraktion) steht und die Messung beider Werte annähernd gleiche Aussagekraft haben, und somit Kinder mit einem erhöhten Anteil an der stabilen Fraktion im Verhältnis dazu auch einen erhöhten Anteil an der labilen Fraktion haben.

Die Bedeutung des HbA_1 als Parameter der Langzeitkontrolle wurde allerdings in Frage gestellt, da nachgewiesen werden konnte, daß HbA_1 sogar bei stabil eingestellten Diabetikern auf große Blutglucoseschwankungen sehr schnell reagiert (36), während bei gesunden Personen wegen zu geringer Blutglucoseschwankungen keine HbA_1 -Änderungen auftraten. Wurden die Blutproben vor der Messung in physiologischer Kochsalzlösung dialysiert, waren die HbA_{1c} -Werte nach der Inkubation erniedrigt (21), und es bestand keine Korrelation dieser Werte zu den rapiden Blutglucosefluktuationen (3,10,13). Gerade bei schlecht eingestellten Diabetikern zeigten sich signifikante Korrelationen der Nüchternblutglucosewerte, der postprandialen Blutglucosewerte und der täglichen Blutglucosedurchschnittswerte mit dem Total- HbA_1 und dem labilen HbA_1 , während bei den gut eingestellten Diabetikern nur eine Korrelation mit dem stabilen HbA_1 gefunden wurde (10). Nach Dunn et al. (17) genügt bei stabil eingestellten Diabetikern ein einziger HbA_1 -Wert in einer 3-Monatsperiode zur Beurteilung der Stoffwechsellage, während er bei abrupten Änderungen der Stoffwechsellage alle 4 Wochen bestimmt werden sollte. Bei einem Diabetiker mit labiler Stoffwechsellage wäre dann, vorausgesetzt die Blutproben wurden nicht dialysiert, ein unterschiedliches Ergebnis zwischen den säulenchromatographisch und

colorimetrisch bestimmten HbA_1 -Konzentrationen zu erwarten, da bei der colorimetrischen Messung nur die stabile Ketoform erfaßt wird, und somit die jüngere Stoffwechseländerung nicht widergespiegelt wird. Somit erlauben die colorimetrisch erfaßten HbA_1 -Werte eine präzisere Beurteilung der langfristigen Einstellung als die säulenchromatographisch ermittelten HbA_1 -Konzentrationen.

Um sich ein noch genaueres Bild der Diabeteseinstellung der vergangenen 1-2 Wochen machen zu können, ist die Messung des glykosylierten Albumins geeignet. Vergleicht man die postprandialen Blutglucosewerte mit denen des glykosylierten Albumins (Abb.1D), so findet sich mit $r = 0.66$ eine signifikante Korrelation. Day und Mitarbeiter (12) zeigten bei Ratten mit alloxaninduziertem Diabetes mellitus eine hoch signifikante Korrelation ($r = 0.91$) zwischen Nüchtern glucose und glykosyliertem Albumin. Da die Glykosylierungsrate von Albumin wesentlich schneller ist als die von HbA_1 , ist beim Albumin schon nach 4-5 Tagen eine Erhöhung durch einen veränderten Glucosespiegel feststellbar, während beim HbA_1 eine Antwort erst nach 8 Tagen möglich ist (12). Außerdem ist der glykosylierte Anteil beim Albumin mit 30% allgemein höher als beim HbA_1 mit 9-20% (24). Daraus lassen sich die unterschiedlichen Korrelationen Blutglucose: HbA_1 und Blutglucose: glykosyliertes Albumin ableiten. Albumin reagiert wesentlich empfindlicher auf Blutglucoseschwankungen als HbA_1 . Daher gibt das glykosylierte Albumin über einen kürzeren Zeitraum eine genauere Information als HbA_1 . Da ein einzelner postprandialer Blutglucosewert nicht sehr aussagekräftig ist, wäre beim Vergleich mit dem entsprechenden

Blutglucosetagesprofil eine noch bessere Korrelation Blutglucose : glykosyliertes Albumin zu erwarten.

Vergleicht man jetzt HbA_1 als Parameter der Langzeitkontrolle und glykosyliertes Albumin als Parameter der Kurzzeitkontrolle miteinander, so ergibt sich für HbA_1 (Säule) : glykosyliertes Albumin (Abb.3B) $r = 0.84$ und für HbA_1 (colorimetrisch) : glykosyliertes Albumin (Abb.3C) $r = 0.78$. Da bei der säulenchromatographischen Methode die labile HbA_1 -Fraktion zum Teil miterfaßt wird, die ebenso wie das glykosylierte Albumin ein Bild der kürzer zurückliegenden Blutglucoseschwankungen gibt, ist die bessere Korrelation HbA_1 (Säule) : glykosyliertes Albumin verständlich.

Bisher wurden nur die Blutglucose, HbA_1 und glykosyliertes Albumin miteinander verglichen. Betrachtet man jetzt die Abhängigkeit des HbA_1 und des glykosylierten Albumins von der Uringlucoseausscheidung/24 Stunden, so finden sich beim Vergleich Uringlucose/24 Std. : HbA_1 (Säule) und Uringlucose/24 Std. : HbA_1 (colorimetrisch) keine Korrelationen (Abb.2a und 2b). Es zeigte sich auch, daß die Gruppen der nach Blutglucose- und Uringlucosewerten mittelmäßig und schlecht eingestellten Diabeteskinder anhand der HbA_1 -Werte nicht signifikant unterscheidbar waren. Ebenso unterschieden sie sich hinsichtlich des glykosylierten Albumins nicht voneinander.

Guthrow et al.(24) fanden, daß die HbA_1 -Werte und die Werte des glykosylierten Albumins zwar gut miteinander korrelierten, aber einige Patienten mit niedrigen HbA_1 -Werten sehr hohe glykosylierte Albumin-Werte hatten. Die teilweise schlechte Korrelation be-

sagt, daß HbA_1 und glykosyliertes Albumin zeitlich verschiedene Aspekte der Glucoseintoleranz zeigen. In diesem Sinne dient HbA_1 eher als Langzeit-, das glykosylierte Albumin eher als Kurzzeitkontrolle, entsprechend der Lebensdauer der Erythrozyten von 120 Tagen und der Albuminhalbwertszeit von 17 Tagen (24). Bei unseren Untersuchungen hatten von 30 schlecht eingestellten Kindern mit einer Glucoseausscheidung über 10% der zugeführten Kohlenhydratmenge 4 Kinder HbA_1 -Werte von 11.7 - 13.9%, was bedeutet, daß vor 1-2 Monaten eine relativ gute Stoffwechsellage gegeben war und die Entgleisung erst vor kurzem eintrat; dies ist auch an den erhöhten Konzentrationen des glykosylierten Albumins von 4 nmol HMF/mg Protein bei 3 dieser 4 Kinder ersichtlich. Damit ist auch das Zustandekommen eines negativen Korrelationskoeffizienten, $r = -0.015$ für den Vergleich Uringlucose : HbA_1 (Säule) zu erklären. Aus einem einzigen Uringlucosewert lassen sich also keine Rückschlüsse auf den HbA_1 -Wert ziehen und somit auf die zurückliegende Qualität der Diabeteseinstellung. In einigen Labors wurden zwar lineare Korrelationen ($r = 0.46$) zwischen Uringlucose- und HbA_1 -Werten ermittelt (20,39), doch die beste Korrelation bestand zwischen den Harnglucoseausscheidungen von 2 Monaten vorher und den HbA_1 -Werten (29). In diesem Sinne wurde nachgewiesen, daß eine Erniedrigung der Uringlucose erst nach 3-4 Wochen ein Absinken von HbA_1 bewirkt (22). Walinder et al.(37) fanden, daß bei Kindern, die mit Insulin behandelt wurden, keine Korrelation ($r = 0.16$) zwischen einzelnen Nüchternblutglucosewerten und den HbA_1 -Werten bestand, aber sich für die HbA_1 -Werte und die zuhause mit Clinitest^R bestimm-

ten Uringlucosemengen mit $r = 0.83$ eine sehr enge Korrelation errechnen ließ. In dieser Untersuchung ergab sich zwischen den HbA_1 - Werten und den logarithmischen Uringlucosewerten (g Glucose / 24 Std.) die beste Korrelation.

Die hier vorgelegten Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die Konzentrationen der postprandialen Blutglucose und des glykosylierten Albumins wesentlich besser miteinander korrelieren ($r = 0.66$) als Uringlucose und glykosyliertes Albumin ($r = 0.29$), obwohl ein einzelner Blutglucosewert nur ein stichpunktartiges Bild des aktuellen Glucosestoffwechsels wiedergeben kann. Nachdem die renale Glucoseausscheidung aber bisher als aussagekräftiger Parameter betrachtet wurde, stellt sich die Frage, ob nicht die Uringlucoseausscheidung neben der Höhe des Glucosespiegels im Blut und der interindividuell unterschiedlichen renalen Glucoseschwelle auch noch von anderen Faktoren abhängig sein könnte, wie z.B. von einer im Verlaufe der Erkrankung erworbenen, erhöhten Durchlässigkeit für Glucose in der Niere, die möglicherweise mit den Glykosylierungsprozessen der Basalmembranen in der Niere zusammenhängen könnte, ähnlich dem Mechanismus, der für die mikrovaskulären Spätkomplikationen des Diabetes mellitus verantwortlich gemacht wird (31,38).

Die unterschiedlichen Ergebnisse der Abhängigkeiten der Blutglucose, der Uringlucose, des HbA_1 und des glykosylierten Albumins untereinander zeigen, wie labil die Stoffwechsellage beim kindlichen Diabetes und wie schwierig es für den Arzt ist, die Qualität der Einstellung zu beurteilen. Auf diese Schwierigkeiten wurde auch in der Literatur (39) immer wieder hingewiesen; so zeigten Kinder, die weder gut noch schlecht eingestellt waren, weite HbA_1 -Schwan-

kungen von normal bis diabetisch (33), oder Kinder, die nach Meinung der Ärzte gut eingestellt waren, hatten erhöhte HbA_1 - Spiegel (22, 39). Auch der Wert der Messung der täglichen Uringlucoseausscheidung wurde in Frage gestellt, denn auch Kinder mit sehr hohen Blutglucosewerten (233 ± 51 mg/dl) hatten negative Uringlucoseausscheidungen (16). Auch die von uns gefundene schlechte Korrelation von postprandialer Blutglucosekonzentration zu Glucoseausscheidung im 24-Std.-Urin (Abb.1A, $r = 0.21$) stellt den Wert der Uringlucosemessung in Frage. Neben den bisherigen Parametern zur Beurteilung der diabetischen Stoffwechselsituation, der Blutglucose und der Uringlucose, haben HbA_1 und glykosyliertes Albumin also ihren festen Platz erhalten. Mit Hilfe von HbA_1 und glykosyliertem Albumin kann somit gezeigt werden, ob und in welchem Zeitraum die Diabetiker gut oder schlecht eingestellt waren. Damit wird auch klar, daß die Frage, die Anlaß zu dieser Untersuchung gab, dahingehend beantwortet werden muß, daß beide Parameter wertvoll sind und die Bestimmung des HbA_1 nicht zugunsten derjenigen des glykosylierten Albumins verlassen werden sollte. Leider erübrigt sich durch die Bestimmung eines einzigen HbA_1 -Wertes oder einer Konzentration des glykosylierten Albumins nicht, wie man sich erhofft hatte, die Blutglucose - und die belastende tägliche Uringlucosemessung. Die Überwachungsmethoden haben sich also leider nicht vereinfacht, dafür ist es aber möglich, ein wesentlich differenzierteres Urteil über die Einstellungsqualität zu erhalten, wenn man HbA_1 , glykosyliertes Albumin, Blut- und Uringlucose bestimmt und miteinander vergleicht.

Ob jedoch der Eindruck einer schlechten Einstellung durch ein Nichteinhalten der Diät, eine falsche Uringlucosemessung oder eine falsche Insulindosierung entsteht und warum gerade der kindliche Diabetes so labil ist und solche Schwierigkeiten bei der Einstellung bereitet, kann auch mit diesen zusätzlichen Meßmethoden nicht viel besser ermittelt werden. Es scheint so, daß es neben der Einführung neuerer und besserer Meßmethoden ebenso wichtig ist, viel Zeit in die Aufklärung und Beratung der Eltern und Kinder über die Krankheit und den Umgang mit der Diät, der Insulindosierung und der häuslichen Uringlucosemessung zu investieren. Es hat sich immer wieder gezeigt, daß die Uringlucosebestimmung mittels Clinitest^R manchen Eltern und Kindern große Schwierigkeiten bereitet. Da davon die Berechnung der Insulindosis abhängig ist, mag wohl in vielen Fällen gerade hier der entscheidende Grund für die schlechte Einstellung liegen.

Seit Mitte des Jahres 1981 allerdings werden die diabetischen Kinder im Haunerschen Kinderspital vorwiegend über häusliche Blutglucosemessungen eingestellt. Seitdem zeichnet sich eine deutliche Wende der Einstellungsqualitäten zur positiven Seite hin ab.

Abschließend sei noch auf andere praktische und theoretische Aspekte der HbA_1 -Bestimmung hingewiesen. Es hat sich gezeigt, daß die Bestimmung von HbA_1 auch als Screening-Test für Glucoseintoleranz und Diabetes mellitus geeignet ist (2,5,9), vor allem in der Diagnostik der gestörten Glucosetoleranz, wobei dann die diätetische Vorbereitungen und zeitaufwendige Blutglucosebestimmungen entfallen.

Die Messung von HbA₁ dient außerdem der Beurteilung des Risikos vaskulärer Spätschäden. So konnte gezeigt werden, daß bei HbA₁ - Werten über 12.6 % ein signifikant höheres Risiko für mikrovaskuläre Spätkomplikationen besteht (5).

Die nicht-enzymatischen Glykosylierungsvorgänge werden als Modell für funktionelle Änderungen der Proteine gesehen und könnten somit eine Erklärung für die diabetische Angiopathie geben (31). So werden gewisse Membranproteine stark glykosyliert (33), wodurch die Funktion der Kapillarmembran verändert und damit die Durchlässigkeit der retinalen Gefäße für Proteine erhöht werden könnte. Die chronische mikrovaskuläre Durchlässigkeit für glykosylierte Albumine könnte für die diabetische Retinopathie verantwortlich sein (7).

Es wurde auch festgestellt, daß bei Diabetikern die Konzentrationen von Hämoglobin und 2,3-Diphosphoglycerat erhöht sind (14,23), was durch die erhöhte Oxygenaffinität von HbA₁ erklärt wird. Dadurch kommt es zur Gewebshypoxie, die durch eine relative Polyzythämie ausgeglichen werden soll. Damit wird ein weiterer Erklärungsversuch für die Entstehung der diabetischen Angiopathie in Abhängigkeit von HbA₁ gegeben.

E.) Zusammenfassung

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, daß die Konzentrationen des glykosylierten Hämoglobins und des glykosylierten Albumins bei Diabetikern erhöht sind. Glykosyliertes Hämoglobin und glykosyliertes Albumin gelten entsprechend ihrer unterschiedlichen Halbwertszeiten im Blut als Langzeit- bzw. Kurzzeitindikator für die Güte der Einstellung der diabetischen Stoffwechsellage.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde nun untersucht, welcher Parameter, das glykosylierte Albumin oder das glykosylierte Hämoglobin, geeigneter zur Überwachung und Einstellung des juvenilen Diabetes mellitus ist.

Dazu wurden die diabetischen Kinder nach postprandialen Blutglucosekonzentrationen und Uringlucoseausscheidungen / 24h in drei Gruppen eingeteilt, in eine gut (G1), eine mittelmäßig (G2) und eine schlecht eingestellte (G3) Gruppe. Die Konzentrationen des glykosylierten Hämoglobins wurden säulenchromatographisch (Erfassung der labilen und stabilen Fraktion) und colorimetrisch (Erfassung der stabilen Ketoform), das glykosylierte Albumin wurde colorimetrisch bestimmt. Es wurden die Korrelationen dieser Werte mit den postprandialen Blutglucosekonzentrationen und den Uringlucoseausscheidungen ermittelt. Am besten korrelierten Blutglucose und colorimetrisch erfaßtes HbA_1 ($r = 0.85$). Ein ähnliches Ergebnis erschien beim Vergleich von Blutglucose und säulenchromatographisch gemessenem HbA_1 ($r = 0.72$). Colorimetrisch und säulenchromatographisch ermittelte HbA_1 -Werte waren mit $r = 0.95$ linear voneinander abhängig. Die Diabeteskinder konnten aber nicht anhand eines colorimetrisch oder säulenchromatographisch bestimmten Wertes eindeutig einer der drei Gruppen zugeordnet werden. Insbe-

sondere die Gruppen G2 und G3 zeigten überlappende HbA_{1c} -Werte. Auch hatten einige Kinder mit relativ niedrigen HbA_{1c} -Werten erhöhte Konzentrationen des glykosylierten Albumins. Aufgrund der Blutglucosekonzentrationen waren nur Gesunde von den gesamten Diabetikern und gut eingestellte (G1) von schlecht eingestellten (G3) Kindern statistisch signifikant zu unterscheiden. Der Korrelationskoeffizient zwischen den Konzentrationen der Blutglucose und des glykosylierten Albumins betrug 0.66. Die Gruppen G2 und G3 unterschieden sich nicht signifikant in den Konzentrationen des glykosylierten Albumins. Glykosyliertes Albumin und säulenchromatographisch und colorimetrisch ermittelte HbA_{1c} -Werte korrelierten gut miteinander ($r = 0.84$ bzw. $r = 0.78$). Zwischen der Uringlucoseausscheidung / 24 h und den Konzentrationen des colorimetrisch und säulenchromatographisch gemessenen HbA_{1c} - und des glykosylierten Albumins bestanden keine Korrelationen. Die Gruppen G1 und G2 unterschieden sich nicht statistisch signifikant in ihrer Uringlucoseausscheidung / 24 h.

Die Ergebnisse haben gezeigt, daß anhand eines einzigen Wertes der Blutglucose, der Uringlucose, des glykosylierten Albumins oder des HbA_{1c} keine eindeutige Zuordnung zu einer der drei Gruppen möglich ist.

Blut- und Uringlucose geben nur ein stichpunktartiges Bild der Stoffwechsellage wider. Daher wird für eine präzise Beurteilung der diabetischen Stoffwechselsituation vorgeschlagen, auch das glykosylierte Albumin und das glykosylierte Hämoglobin zu bestimmen, zumal damit erfaßt wird, in welchem Zeitraum, ob kurzfristig vor 1-2 Wochen oder längerfristig vor 2-3 Monaten, der Diabetiker gut oder schlecht eingestellt war.

Es wird auch auf die Bedeutung der HbA₁-Messung als Screening-Test für die Diagnostik der gestörten Glucosetoleranz und für die Beurteilung des Angiopathie-Risikos bei Diabetikern hingewiesen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- (1) Allen DW, Schroeder WA, Balog J: Observation on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin. J.Am.Chem.Soc.80: 1628-1634 (1958)
- (2) Arye Lev-Ran MD: Glycohemoglobin: Its use in the follow up of diabetes and diagnosis of glucose intolerance. Arch.Intern. Med.141: 747-749 (1981)
- (3) Bolli G, Compagnucci P, Cartechini MG, De Feo P, Santeusanio F, Brunetti P: Analysis of short-term changes in reversibly and irreversibly glycosylated haemoglobin A₁: Relevance to diabetes mellitus. Diabetologia 21: 70-72 (1981)
- (4) Boockin RM, Gallop PM: Structure of hemoglobin A_{1c}: Nature of the N-terminal -chain blocking group. Biochem.Biophys. Res.Comm.32: 86 (1968)
- (5) Boucher BJ, Welch SG, Beer MS: Glycosylated hemoglobins in the diagnosis of diabetes mellitus and for assesment of chronic hyperglycaemia. Diabetologia 21: 34-36 (1981)
- (6) Bunn HF, Haney DN, Gabbay KH, Gallop PM: Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A_{1c}. Biochem.Biophys.Res.Comm.67: 103 (1975)
- (7) Chavers B, Etzwiler D, Michael AF: Albumin deposition in dermal capillary basement membrane in insulin-dependet diabetes mellitus. Diabetes 30: 275-278 (1981)
- (8) Clegg MD, Schroeder WA: A chromatographic study of the minor components of normal adult human hemoglobin including a comparison of hemoglobin from phenylketonuric individuals. J.Am. Chem.Soc.81: 6065-6069 (1959)

- (9) Clipson KL, Kansal PC, Poon MC, Boshell BR: Hemoglobin A₁ in the diagnosis of chemical diabetes mellitus. *Horm.Metab. Res.*13: 129-131 (1981)
- (10) Compagnucci P, Cartechini MG, Bolli G, De Feo P, Santeusano F, Brunetti P: The importance of determining irreversibly glycosylated hemoglobin in diabetics. *Diabetes* 30: 607-612 (1981)
- (11) Daneman D, Tsalikian E, Hengstenberg D, Becker J, Drash AL: Glycosylated haemoglobin in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 19: 423-426 (1980)
- (12) Day JF, Ingebretsen CG, Ingebretsen WR, Baynes JW, Thorpe SR: Nonenzymatic glycolysation of serum proteins and hemoglobin: Response to changes in blood glucose levels in diabetic rats. *Diabetes* 29: 524-527 (1980)
- (13) Ditzel J, Forsham PH, Lorenzi M: Rapid fluctuations in glycosylated hemoglobin concentration as related to acute changes in blood glucose. *Diabetologia* 19: 403-404 (1980)
- (14) Ditzel J, Kawahra R, Mourits-Andersen T, Ostergaard GZ, Kjaergaard JJ: Changes in blood glucose, glycosylated hemoglobin and hemoglobin oxygen-affinity, following meals in diabetic children. *Eur.J.Pediatr.*137: 171-174 (1981)
- (15) Dolhofer R, Wieland OH: Glycosylation of serum albumin: Elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. *FEBS Lett.* 103: 282-286 (1979)
- (16) Dorchy H, Ludwigson J: Validity of urinalysis in diabetic children. (Letter to the Editor). *Acta.Paed.Scand.*69: 531-532 (1980)

- (17) Dunn PJ, Cole RA, Soeldner JS, Gleason RE: Stability of hemoglobin A_{1c} levels in repetitive determinations in diabetic out-patients. J.Clin.Endocrinol.Metab. 52: 1019-1022 (1981)
- (18) Fitzgibbons JF, Koler RD, Jones RT: Red cell age-related changes of hemoglobin A_{1a+b} and A_{1c} in normal and diabetic subjects. J.Clin.Invest. 58: 820-824 (1976)
- (19) Flückner R, Winterhalter KH: In vitro synthesis of HbA_{1c}. FEBS Lett. 71: 356-360 (1976)
- (20) Gabbay KH, Hasty K, Breslow JL, Ellison RC, Bunn HF, Gallop PM: Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus. Clin.Endocrinol.Metab.44: 859-864 (1977)
- (21) Goldstein DE, PPeth SB, England JD, Hess RL, Da Costa J: Effects of acute changes in blood glucose on HbA_{1c}. Diabetes 29: 623-627 (1980)
- (22) Gonen B, Rubenstein AH, Rochman H, Tanega SP, Horwitz DL: Hemoglobin A₁: An indicator of metabolic control of diabetic patients. Lancet II (1977) 734-736
- (23) Graham JJ, Ryall RG, Wise PH: Glycosylated haemoglobin and relative polycythaemia in diabetes mellitus. Diabetologia 18: 205-207 (1980)
- (24) Guthrow CE, Morris MA, Day JF, Thorp SR, Baynes JW: Enhanced nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in diabetes mellitus. Proc.Natl.Acad.Sci.76: 4258-4261 (1979)
- (25) Inada M, Oishi M, Nishikawa M, Kurata S, Imura H: Clinical elevation of measuring glycosylated hemoglobin levels for

assessing long-term blood glucose control in diabetics.
Endocrinol.Japon.27: 411-415 (1980)

- (26) Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek CM, Lehrman M, Cerami A: Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus. N.Engl.J.Med.295: 417-421 (1976)
- (27) Parker KM, England JD, Da Costa J, Hess RL, Goldstein DE: Improved colorimetric assay for glycosylated hemoglobin. Clin.Chem.27: 669-672 (1981)
- (28) Rahbar S: An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. Clin.Chim.Acta 22: 296-298 (1968)
- (29) Rösler-Engelhardt A: Hämoglobin A_{1c}: Ein Indikator für die Stoffwechselkontrolle bei Diabetikern. Lab.Med.4: 85 (1980)
- (30) Sachs L: Statistische Auswertungsmethoden S.230-236 (1972), Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- (31) Schleicher E, Deufel T, Wieland OH: Non-enzymatic glycosylation of human serum lipoproteins. FEBS Lett.129: 1-4 (1981)
- (32) Schnek AG, Schroeder WA: The relation between the minor components of whole normal human adult hemoglobin as isolated by chromatography and starch block electrophoresis. J.Am. Chem.Soc.83: 1472-1478 (1961)
- (33) Schröter W, Jentsch E, Stumpf B, Kubel R, Turner-Heckmann E, Gahr M: Glycosylated hemoglobins and their relation to the control of juvenil diabetes mellitus. Helv.Paediat.Acta 33: 535 (1978)
- (34) Svendsen PA, Sandahl CJ, Welinder B, Nerup J: Fast glycosylation of hemoglobin. Lancet III (1979) 603

- (35) Trivelli LA, Ranney HM, Lai HT: Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. N.Engl.J.Med.284: 353 (1971)
- (36) Trovati M, Lorenzati R, Vitali S, Guerra E, Martire S, Pagno G: Labile and stabile glycosylated hemoglobin during OGTT in healthy subjects and maturity-onset diabetics. Acta Diab.Lat.18: 207-211 (1981)
- (37) Walinder O, Wibell I, Tuvemo T: Relation between HbA₁ and determinations of glucose in diabetics treated with and without insulin. Diab.Metab.6: 251-255 (1980)
- (38) Williams SK, Devenny JJ, Bitensky MW: Micropinocytic ingestion of glycosylated albumin by isolated microvessels: Possible role in pathogenesis of diabetic microangiopathy. Proc.Natl.Acad.Sci.78: 2393-2397 (1981)
- (39) Williams ML, Savage DCL: Glycosylated haemoglobin levels in children with diabetes mellitus. Arch.Dis.Child.54: 295-298 (1979)
- (40) Winterhalter KH: Glykosylierte Hämoglobine und ihre Bedeutung beim Diabetes mellitus. Schweiz.Med.Wochenschr.109: 1105-1106 (1979)

L e b e n s l a u f

- 1957 geboren am 20.04. in Altötting als Tochter des
Goldschmieds Herbert Stern und seiner Frau Anna-
Maria Stern, geb. Siebert
- 1963-67 Volksschule in Altötting
- 1967-76 Kurfürst Maximilians Gymnasium in Burghausen
- 1976 Erlangung der Hochschulreife am 25.06.
- 1977 Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig Maximilians
Universität München
- 1979 Ärztliche Vorprüfung am 20.03.
- 1980 Erster Abschnitt der Ärztliche Prüfung am 20.03.
- 1982 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am 19.03.
- 1982-83 Praktische Ausbildung: Pädiatrie an der von Hauner-
schen Kinderklinik München, Innere Medizin Großha-
dern Med.I bei Prof. Riecker, Chirurgie/Kinderchirurgie
München-Schwabing bei Prof. Höpner
- 1983 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am 12.10.
und 17.11.
- 1984 Rigorosum am 31.01. in München

